

بررسی اثر منگنز بر غلظت لیپوپروتئین های پلاسما و کبد و فعالیت لیپوپروتئین لیپاز در رات

عفت فرخی*، دکتر سیدعلی اصغر مشتاقی**، دکتر محسن آبی**، کیهان قطره سامانی***

چکیده:

مقادیر بالاتر از نرمال منگنز می تواند اثرات سمی شدیدی بر سیستم های مختلف بدن از جمله کبد اعمال کند و به نظر می رسد متابولیسم لیپوپروتئین ها می تواند تحت تاثیر غلظت های بالای منگنز قرار گرفته و میزان آن در خون و کبد تغییر کند. در این پروژه تغییرات چربیهای پلاسما شامل کلسترول، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C، VLDL-C و فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز و همچنین تغییرات تری گلیسرید و فسفولیپید های کبد در رات متعاقب دوزهای مختلف منگنز بررسی گردید. مقادیر مختلف منگنز به صورت دوزهای مزمن (۲mg/kg) به مدت ۳۰ روز و دوزهای حاد (۱۵ mg/kg) به مدت دو روز به صورت داخل صفاقی به رات ها تزریق شد. پس از مدت زمان یاد شده متعاقب تزریق دوزهای مزمن مقادیر کلسترول، تری گلیسرید، VLDL-C و HDL-C پلاسما نسبت به کنترل افزایش نشان داد در حالی که LDL-C کاهش نشان داده است. در دوزهای حاد نیز مقادیر کلسترول و LDL-C افزایش نشان داد، اما هیچ تغییری در سطح تری گلیسرید و VLDL-C پلاسما نسبت به کنترل مشاهده نگردیده است. در هر دو حالت مزمن و حاد، فسفولیپیدها و تری گلیسریدهای کبد افزایش نشان داده و فعالیت لیپوپروتئین لیپاز پلاسما کاهش داشته است. نتایج این پروژه نشان می دهد منگنز در غلظت های مختلف، متابولیسم لیپوپروتئین ها را هم در پلاسما و هم در کبد، تحت تأثیر قرار می دهد و بدین ترتیب اثرات متفاوتی را بر سیستم های مختلف بدن اعمال می کند.

* منگنز، لیپوپروتئین، لیپوپروتئین لیپاز.

مقدمه:

جذب منگنز در سرتاسر روده کوچک صورت می گیرد (۶).

موارد متعددی از مسمومیت با منگنز در کارگران معادن و کارخانه های تولیدکننده آلیاژ منگنز (۷) گزارش گردیده است. منگنز ایجاد مسمومیت تنفسی، گوارشی و عصبی می نماید و مسمومیت عصبی منگنز با نام منگانیزم (Manganism) بسیار شبیه بیماری پارکینسون می باشد (۸).

منگنز در غلظت های بالا در فرآیندهای اشباع

منگنز یکی از عناصر کمیاب (Trace elements)

می باشد که حضور آن در مقادیر بسیار کم در بدن، نقش متابولیکی مهمی را دارا می باشد (۱). این عنصر در متابولیسم کربوهیدرات ها و چربی ها دخالت دارد و برای رشد طبیعی سیستم اسکلتی بدن و همچنین برای یبوستت پروتئوگلیکان ها مورد نیاز است (۲). منگنز در ساختمان آنزیم های مختلفی در بدن از جمله منگنز سوپراکسید دیسموتاز (Mn SoD) (۳)، گلوتامین سنتتاز (۴) و فسفوانول پیرووات کربوکسی کیناز (۵) بکار می رود.

* کارشناسی ارشد گروه بیوشیمی-دانشگاه علوم پزشکی-شهرکرد-دانشکده پزشکی-گروه بیوشیمی-تلفن: ۰۳۸۱، ۳۳۳۵۶۵۴، دخیلی ۲۳۸۷

(مؤلف مسئول).

***فوق لیسانس بیوشیمی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

**استادیار گروه بیوشیمی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

شدن و طویل شدن اسیدهای چرب ضروری در کبد شرکت می کنند (۹) و انتقال اسیدهای چرب از تری گلیسرید به چربی های دیگر را مهار می کند (۱۰). منگنز همچنین باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می گردد (۱۱). مطالعات نشان داده کاهش یادگیری و تضعیف حافظه متعاقب مسمومیت با منگنز به دلیل افزایش بیوسنتز کلسترول در مغز می باشد (۱۲). از آنجا که مقادیر بالاتر از حد نرمال منگنز می تواند اثرات سمی شدیدی بر سیستم های مختلف بدن از جمله استخوان، اعصاب و کبد اعمال کند و احتمالاً می تواند متابولیسم لیپوپروتئین های مختلف را تحت تأثیر قرار دهد و با توجه به این که تا کنون تمام پارامترهای مربوط به چربی ها در این زمینه به طور همزمان بررسی نگردیده است، به عنوان مثال در مطالعه ای (۱۲) تأثیر منگنز بر میزان کلسترول و در مطالعه دیگری (۲۰) اثر کمبود منگنز بر HDL و آپوپروتئین ها بررسی شده است، لذا در این مطالعه جهت گسترش موضوع و مطالعه بیشتر، اثر دوزهای مختلف منگنز بر تمامی لیپیدها و لیپوپروتئین های پلاسما و همچنین لیپیدهای کبد مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها:

در یک مطالعه مداخله ای تأثیر غلظت های مختلف منگنز که به صورت حاد و مزمن تجویز گردید بر روی متابولیسم لیپوپروتئین های پلاسما، چربی های کبد و همچنین فعالیت آنزیم لیپو پروتئین لیپاز در رات های با وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم مورد مطالعه قرار گرفت. محلول هایی از کلرور منگنز به فرمول $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ به مقدار ۲ mg/kg برای دوزهای مزمن و به میزان ۱۵ mg/kg برای دوزهای حاد در سرم فیزیولوژی استریل تهیه گردید و روزانه به هر رات ۰/۲ میلی لیتر به صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۱۲). برای دوزهای مزمن ۵ گروه پنج تایی انتخاب گردید که دوره تزریق برای این گروه ها ۱۰، ۱۵،

۲۰، ۲۵ و ۳۰ روز بوده است. در کنار آنها یک گروه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد که روزانه ۰/۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی دریافت می کردند. برای دوزهای حاد نیز یک گروه پنج تایی جهت تزریق منگنز و یک گروه نیز جهت کنترل در نظر گرفته شد که دوره تزریق برای آنها ۲ روز بود. پس از پایان دوره تزریق رات ها به مدت ۱۸-۱۲ ساعت ناشتا نگه داشتند سپس توسط کلروفرم بیهوش گردیده و پس از تزریق هپارین از قلب آنها خون گرفته شده و بر روی پلاسما پارامترهای مختلف چربی شامل کلسترول و تری گلیسرید، $HDL-C$ (High Density Lipoprotein Cholestrole)، $LDL-C$ (Low Density Lipoprotein Cholestrole)، $VLDL-C$ (Very Low Density Lipoprotein Cholestrole) و فعالیت لیپو پروتئین لیپاز (LPL) اندازه گیری شد. کبد رات ها نیز جهت اندازه گیری فسفولیپیدها و تری گلیسرید جدا گردید.

سطح کلسترول و تری گلیسرید بوسیله متدهای آنزیمی و با استفاده از کیت های آزمایشگاهی (زیست شیمی) تعیین گردید. $HDL-C$ و لیپوپروتئین های دیگر به روش رسوب گذاری پلی آنیونی اندازه گیری شدند (۱۳). فعالیت آنزیم LPL نیز به روش Korn اندازه گیری گردید (۱۴). فسفولیپیدهای کبد بر اساس روش Rose (۱۵) از کبد استخراج گردید و بوسیله روش Bajinski (۱۶) اندازه گیری گردید. قبل از انجام آزمایشات کلیه ظروف شیشه ای در اسیدنیتریک ۱۰ درصد و ظروف پلاستیکی در محلول اتیلن دی آمید تترا استیک اسید ($ethylen\ diamid\ tetra\ acetic\ acid = EDTA$) با غلظت ۰/۰۱ مولار قرار داده سپس با آب مقطر دو بار تقطیر شسته شدند.

روش آماری مورد استفاده در این مطالعه آنالیز واریانس یکطرفه بوده و مقادیر $P < ۰/۰۵$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شدند. لازم به ذکر است به دلیل

انجام آزمایشات بر روی کبد استفاده از مطالعات زوج امکان پذیر نبود.

نتایج:

در اولین سری آزمایشات، بر روی پلاسمای رات هایی که تحت تزریق اثرات طولانی مدت (دوزهای مزمن) قرار داشتند میزان کلسترول، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C، VLDL-C و فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز اندازه گیری شد. بیشترین تغییرات پس از ۳۰ روز مشاهده گردید که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است و قبل از ۳۰ روز تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردیده است.

نتایج به دست آمده نشان می دهد متعاقب دوزهای مزمن پس از ۳۰ روز مقادیر کلسترول، HDL-C، تری گلیسرید و VLDL-C افزایش و میزان LDL-C کاهش می یابد. منگنز همچنین باعث کاهش فعالیت آنزیم LPL گردیده است نتایج اثرات طولانی مدت منگنز بر روی فسفولیپید ها و تری گلیسرید کبد در

جدول شماره ۲ نشان داده شده است. پس از تزریق منگنز در دوره های متفاوت بیشترین تغییرات پس از ۳۰ روز مشاهده گردید که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است و قبل از ۳۰ روز تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل مشاهده نگردیده است. متعاقب تزریق طولانی مدت منگنز (پس از ۳۰ روز) فسفولیپید ها و تری گلیسرید کبد افزایش نشان داده است.

نتایج بدست آمده از اثرات کوتاه مدت (دوزهای حاد) در جدول شماره ۳ آمده است. متعاقب تزریق دوزهای حاد پس از دو روز مقادیر کلسترول و LDL-C افزایش نشان داده در حالی که فعالیت LPL کم شده است و تغییرات بر روی تری گلیسرید و VLDL-C و HDL-C نامحسوس می باشد. نتایج اثرات حاد منگنز بر روی فسفولیپید ها و تری گلیسرید کبد در جدول ۴ نشان داده شده است.

همانگونه که مشاهده می گردد، متعاقب تزریق کوتاه مدت منگنز (پس از ۲ روز) فسفولیپید ها و تری گلیسرید کبد افزایش یافته است.

جدول شماره ۱: اثرات مزمن منگنز (طولانی مدت) به مدت ۳۰ روز بر روی لیپوپروتئین های پلاسما و فعالیت آنزیم LPL

پلاسما

| پارامترهای اندازه گیری شده | درصد تغییرات نسبت به کنترل | دوزهای مزمن ۲ mg/kg | کنترل ۲ mg/kg |
|--------------------------------|----------------------------|---------------------|---------------|
| کلسترول (mg/dl) | +۱۶ | ۶۷/۲ ± ۷/۵* | ۵۸ ± ۳/۳ |
| تری گلیسرید (mg/dl) | +۴۵ | ۹۸/۲ ± ۵/۵* | ۶۷/۸ ± ۶/۷ |
| VLDL-C (mg/dl) | +۴۴/۵ | ۱۹/۶ ± ۱* | ۱۳/۵ ± ۱/۳ |
| LDL-C (mg/dl) | -۳۴ | ۶/۵۶ ± ۳/۴* | ۱۴/۴ ± ۱/۴ |
| HDL-C (mg/dl) | +۱۵ | ۳۸ ± ۳/۴* | ۳۰ ± ۴ |
| LPL activity (unit/mg protein) | -۲۲ | ۱/۰۸ ± ۰/۰۲* | ۱/۳۹ ± ۰/۰۳ |

نتایج به دست آمده $Mean \pm SD$ حاصل از پنج نمونه می باشد.
*تفاوت معنی دار با گروه کنترل در $P < ۰/۰۵$.

جدول شماره ۲: اثرات مزمن منگنز (طولانی مدت) به مدت ۳۰ روز بر روی فسفولیپید ها و تری گلیسرید کبد

| پارامترهای اندازه گیری شده | درصد تغییرات نسبت به | دوزهای مزمن ۲ mg/kg | کنترل ۲ mg/kg |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|---------------|
| فسفولیپید (mg/ gr tissue) | +۴۲ | ۰/۵۴۲ ± ۰/۰۳* | ۰/۳۷۴ ± ۰/۰۳ |
| تری گلیسرید (mg/ gr tissue) | +۱۸ | ۵/۴ ± ۰/۳* | ۴/۶ ± ۰/۴ |

نتایج به دست آمده $Mean \pm SD$ حاصل از پنج نمونه می باشد.

*تفاوت معنی دار با گروه کنترل در $P < ۰/۰۵$.

بحث:

نتایج به دست آمده در این پروژه نشان می دهد که تزریق دوزهای مزمن و حاد منگنز باعث افزایش کلسترول خون می گردند (جدول شماره ۱ و ۳). منگنز برای سنتز کلسترول ضروری می باشد و یک کوفاکتور برای آنزیم های مولونات کیناز (۱۷) و فارنسیل پیروفسفات سنتتاز (۱۸) (آنزیم هایی که در

بیوسنتز کلسترول شرکت می کنند) به شمار می رود و احتمالاً از این طریق بیوسنتز کلسترول را در میکروزم های کبدی افزایش می دهد.

Roby کاهش مقادیر کلسترول کبدی و پلاسما را همزمان با کمبود منگنز گزارش کرد (۱۹). مطالعات نشان داده تضعیف حافظه و کاهش یادگیری متعاقب

جدول شماره ۳: اثرات حاد منگنز (کوتاه مدت) به مدت ۲ روز بر روی لیپوپروتئین ها و آنزیم LPL پلاسما

| پارامترهای اندازه گیری شده | درصد تغییرات نسبت به کنترل | دوزهای حاد ۱۵ mg/kg | کنترل ۱۵ mg/kg |
|--------------------------------|----------------------------|---------------------|----------------|
| کلسترول (mg/dl) | +۴۹ | ۹۶/۴ ± ۶/۱* | ۶۴/۴ ± ۴/۶ |
| تری گلیسرید (mg/dl) | -۱۳ | ۵۵ ± ۴/۴NS | ۶۲/۶ ± ۳/۵ |
| VLDL-C (mg/dl) | -۱۲ | ۱۱ ± ۰/۸NS | ۱۲/۴۸ ± ۰/۷ |
| LDL-C (mg/dl) | +۲۸۰ | ۴۸ ± ۳/۳* | ۱۷/۱ ± ۱ |
| HDL-C (mg/dl) | +۷ | ۳۷/۴ ± ۴NS | ۳۵ ± ۳/۳ |
| LPL activity (unit/mg protein) | -۱۵ | ۱/۱۵ ± ۰/۰۱* | ۱/۳ ± ۰/۰۳ |

NS: Nonsignificant

نتایج به دست آمده $Mean \pm SD$ حاصل از پنج نمونه می باشد.

*تفاوت معنی دار با گروه کنترل در $P < ۰/۰۵$.

جدول شماره ۴: اثرات حاد منگنز (کوتاه مدت) بر روی فسفولیپید ها و تری گلیسرید کبد

| پارامترهای اندازه گیری شده | درصد تغییرات نسبت به کنترل | دوزهای مزمن ۱۵mg/kg | کنترل ۱۵ mg/kg |
|-----------------------------|----------------------------|---------------------|----------------|
| فسفولیپید (mg/ gr tissue) | +۶۲ | ۰/۴۲ ± ۰/۰۴* | ۰/۲۶ ± ۰/۰۳ |
| تری گلیسرید (mg/ gr tissue) | +۷۰ | ۶/۱۴ ± ۰/۴* | ۳/۶ ± ۰/۳ |

نتایج به دست آمده $Mean \pm SD$ حاصل از پنج نمونه می باشد.
*تفاوت معنی دار با گروه کنترل در $P < 0/05$

VLDL-C در پلاسما از لحاظ آماری معنی دار نبود (جدول شماره ۳). در حالی که تری گلیسرید کبد افزایش نشان داده است (جدول شماره ۴). منگنز در دوزهای بالا سنتز تری گلیسرید و VLDL-C را در کبد افزایش می دهد و احتمالاً ترشح آنها را از کبد مختل می کند. مطالعات انجام شده نیز نشان داده برای ترشح VLDL-C از کبد وجود یون کلسیم ضروری است و همه آنتاگونیست های کلسیم از جمله منگنز ترشح VLDL-C از کبد را مختل می کند (۲۱). کلسیم بوسیله گیرنده های داخل سلولی در ترشح VLDL-C نقش دارد و اتصال لیوپروتئین ها به این گیرنده ها احتمالاً وابسته به کلسیم است.

در دوزهای حاد میزان LDL-C به نحو چشمگیری افزایش نشان داده است که چند علت را می توان برای آن عنوان کرد. به دلیل اینکه کلسترول چربی اصلی LDL-C می باشد میزان LDL-C در دوزهای حاد افزایش نشان می دهد. همچنین ممکن است منگنز سنتز رسپتورهای LDL-C را مختل نماید. مطالعات نشان داده افزایش منگنز باعث تغییر در غلظت اسید آمینه های مختلف می گردد (۲۲) و احتمالاً از این طریق باعث اختلال در سنتز پروتئین می گردد. همچنین احتمال می رود در حضور منگنز کیفیت ساختمان لیوپروتئین ها نیز تغییر کند و به این ترتیب برداشت آنها توسط کبد مختل گردد. چرا که

مسمومیت با منگنز به دلیل افزایش بیوسنتز کلسترول در مغز می باشد (۱۲). نتایج به دست آمده در این بخش با گزارش های فوق مطابقت دارد.

الگوی تغییرات HDL-C نیز مشابه تغییرات کلسترول است و با افزایش میزان منگنز مقدار HDL-C افزایش می یابد. Kavano در طی آزمایشات خود نشان داد، در رات هایی که با رژیم کمبود منگنز تغذیه شده اند میزان HDL-C و همچنین آپوپروتئین E (Apo E) کاهش می یابد (۲۰) احتمالاً منگنز در بیوسنتز Apo E نقش دارد. در دوزهای مختلف منگنز، مقدار فعالیت آنزیم LPL کاهش نشان داده است ($P < 0/05$) (جدول شماره ۱ و ۳). کاهش فعالیت LPL منجر به کاهش هیدرولیز هسته های تری گلیسریدی ذرات شیلومیکرون و VLDL-C و تبدیل این ذرات به IDL (Intermediate Density Lipoprotein) می گردد. این ذرات یا مستقیماً توسط کبد برداشته شده و یا به ذرات LDL-C تبدیل شده و توسط سایر بافت ها جذب می گردند. به همین دلیل همانگونه که مشاهده می گردد در دوز های مزمن به دنبال کاهش فعالیت LPL، مقادیر تری گلیسرید و VLDL-C افزایش یافته و همچنین میزان LDL-C کاهش نشان داده است. نتایج به دست آمده در این بخش با مطالعات Sonkins مطابقت دارد (۹). در دوز های حاد تغییرات میزان تری گلیسرید و

آزمایشات فوق نشان می دهد مگنزر به طرق مختلف بر روی متابولیسم چربی های خون و کبد تأثیر می گذارد و از این طریق اثرات زیادی را بر سیستم های مختلف بدن اعمال می کند. در ارتباط با چگونگی دخالت این عنصر در متابولیسم چربی ها و مکانیسم عمل آن در سطح مولکولی نکات مبهم بسیاری وجود دارد و مکانیسم دقیق اثرات مگنزر بر متابولیسم لیپوپروتئین ها نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه دارد.

تشکر و قدردانی:

باتشکر از اساتید محترم گروه بیوشیمی دانشکده داروسازی دانشگاه اصفهان که از راهنمایی های ارزنده شان بهره مند گردیدم.

مطالعات نشان داده در رات هایی که با کمبود مگنزر در رژیم غذایی تغذیه شده اند میزان آپوپروتئین های مختلف تغییر نموده از جمله اینکه Apo E کاهش و Apo C افزایش پیدا کرده است (۲۰).

یکی دیگر از فاکتورهایی که در رات های تحت تزریق مگنزر افزایش یافته است میزان فسفولیپیدهای کبد می باشد. ارقام به دست آمده نشان می دهد که میزان فسفولیپیدهای کبد متعاقب دوزهای مختلف مگنزر افزایش یافته است (جداول شماره ۲ و ۴).

احتمالاً مگنزر سنتز فسفولیپیدها در کبد را افزایش می دهد. مطالعات قبلی نیز نشان داده افزایش مگنزر باعث افزایش فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانول آمین پلاسما می گردد (۹).

References :

1. Martz W. The essential trace elements. Science. 213: 1332-8, 1981.
2. Liu A.; Heinrichs BS.; Leach RM. In fluence of manganese deficiency on the characteristics of proteoglycans of avian epiphyseal growth plate cartilage. Poult Sci. 73(5): 663-9, 1994.
3. Sun AY.; Yong WL.; Kim HD. Free radical and lipid peroxidation in manganese- induced neuronal cell injury. Ann NY Acad Sci, 679: 358-63, 1993.
4. Aschner M.; Gannon M. Manganese (Mn) transport across the rat blood-brain barrier: saturable and transferrin-dependent transport mechanisms. Brain Research Bulletin, 33: 345-49, 1994.
5. Lambeth DO.; Muhonen WW. Factors effecting the manganese and iron activation of the phosphoenol pyruvate carboxykinase isoenzymes from rabbit. Biochim Biophys Acta, 1156: 58-91, 1992.
6. Palph A. Trace elements. In: Garrow JS.; James WPT.; Palph A. Human nutrition and dietetics. 10th ed. Edinburgh. Philadelphia: USA, 202, 2000.
7. Wennberg A. Manganese exposure in steel smelters a health hazard to the nervous system. Scand. J Work Environ Health, 17: 255-62, 1991.
8. Rodier J. Manganese poisoning in moroccan miners. British Jurnal Industrial Medicine, 12: 21-35, 1955.
9. Jonkins KJ.; Kramer JKG. Effect of excess dietary manganese on lipid composition of calf blood plasma, heart and liver. J Dairy Sci, 74: 3944-8, 1991.
10. Tsai SS.; Sun AY.; Kim HD.; Sun GY. Manganese exposure to PC-12 cell alters triacylglycerol metabolism and promotes neurite outgrowth. Life Sci, 52(19): 1567-75, 1993.
11. Bloodsworth A.; Donnell VB.; Batinic-Haberle I.; Chumley PH.; et al. Manganese prophyrin reactions with lipids and lipoproteins. Free Radic Biol Med, 28(7): 1017-29, 2000.

12. Senturk UK.; Oner G. The effect of manganese-induced hypercholesterolemia on learning in rats. Biol Trace Elem Res, 51: 249-57, 1996.
13. Parakh AC.; Gank DH. Free and total cholestrol. In: Bauer JD. Clinical laboratory methods. (ed.): From Mossby Company. Toronto: Canada, 546-9, 1982.
14. Korn ED. Lipoprotein lipase (clearing factor) In: Sohn ML. Methods in enzymology, Academic press. London: SP. Colowich, (ede.). 5: 542-5, 1962.
15. Rose H.; Vahyhan D.; Steinberg M. Utilization of fatty acid by rat liver slices an a function of medium concentration. Am J Physiol, 206: 345-50, 1964.
16. Park AC.; Juny DH. Serum lipids. In: Bauer JD. (Ed.). Clinical laboratory methods: Feom Mossby Company. Toronto: Canada, 548-9, 1989.
17. Amdur B.; Rilling H.; Block K. The enzymatic conversion of mevalonic acid to squalene. J Chem Soc, 79: 2646-7, 1957.
18. Benedict C.; Kett J.; Porter J. Properties of farnecyl pyrophosphate synthetase of pig liver. Arch Biochem Biophys, 110: 611-21, 1965.
19. Roby MJ.; Vann K. Freeland-graves J.; Shorey R. Plasma and liver cholestrol in the manganese deficient rat. Fed proc. 41: 786, 1982.
20. Kawano J.; Ney DM.; Keen CL.; Schneeman BO. Altered high density lipoprotein composition in manganese-deficient sprague-Dawley and wistar rats. J Nutr, 117: 902-6, 1987.
21. Nossen JO.; Rustan AC.; Drevon CA. Calcium-antagonists inhibit secretion of very-low-density lipoprotein from cultured rat hepatocytes. Biochem J, 247(2): 433-9, 1987.
22. Lipe GW.; Duhort H.; Newport GD.; Slikker W. Effect of manganese on the concentration of amino acids in different regions. J Environ Sci Health B, 34(1): 119-32, 1999.